

## Buerger hastalığında ADP ve kollajen ile tetiklenmiş trombosit agregasyonu yanıtlarının sağlıklı kişilerle karşılaştırılması

*Comparison of ADP-and collagen-induced platelet aggregation responses between patients with Buerger's disease and healthy individuals*

Mine Yılmaz Demirbaş, Muhterem Gülsever,<sup>1</sup> Ahmet Kürşat Bozkurt

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı, <sup>1</sup>Hemostaz Laboratuvarı, İstanbul,

**Amaç:** Bu çalışmada antitrombositler ve hemoreolojik ilaç kullanmayan Buerger hastalarında adenosin difosfat (ADP) ve kollajen ile tetiklenen trombosit agregasyon düzeyleri araştırıldı.

**Çalışma planı:** Fontaine III-IV Buerger hastalığı tanısıyla takip edilen ve antiagregan veya hemoreolojik ilaç kullanmayan 10 hastada ve 50 yaşından küçük sağlıklı 10 erkekte (kontrol grubu) ADP ve kollajen ile tetiklenen trombosit agregasyon değerleri, Chrono-log platelet agregometre cihazında ADP ve kollajen Chrono-log kiti kullanılarak ölçüldü.

**Bulgular:** Buerger grubunda ADP ile tetiklenen agregasyonda ortalama değer %78.7±9.7, kontrol grubunda ise %81.5±3.5 bulundu (p>0.05). Kollajen ile tetiklenen trombosit agregasyonunda Buerger grubunda ortalama değer %90.5±10.0, kontrol grubunda %88.5±2.3 idi (p>0.05).

**Sonuç:** Bulgularımız, Buerger hastalarında agregasyona eğilim olmadığını göstermektedir.

**Anahtar sözcükler:** Adenosin difosfat; kollajen; trombosit agregasyonu; tromboanjitis obliterans.

**Background:** We investigated platelet aggregation levels triggered by adenosine diphosphate (ADP) and collagen in patients with Buerger's disease who were not on antiplatelet or hemorheologic treatment.

**Methods:** We measured ADP- and collagen-induced platelet aggregation responses in 10 patients with Fontaine III-IV Buerger's disease without a history of antiagregant or hemorheologic therapies and in 10 male healthy individuals under the age of 50 years (control group). Measurements were made on a Chrono-log platelet aggregometer using ADP and collagen Chrono-log kits.

**Results:** The mean platelet aggregation responses triggered by ADP were 78.7±9.7% and 81.5±3.5% in the patient and control groups, respectively (p>0.05). Collagen-induced response was 90.5±10.0% in the patient group, and %88.5±2.3% in the control group (p>0.05).

**Conclusion:** Our findings suggest that patients with Buerger's disease do not have a tendency to platelet aggregation.

**Key words:** Adenosine diphosphate; collagen; platelet aggregation; thromboangiitis obliterans.

Buerger hastalığı (tromboanjitis obliterans), nonaterosklerotik, segmental, enflamatuvar, orta veya küçük çaplı arterleri tutan, periferik tıkaçıcı damar hastalıklarından biridir. Doğrudan sigara alışkanlığı veya tütün kullanımı ile ilişkili olan hastalığın etyolojisinden genetik faktörler, hiperkoagülabilité, damar endotel yapısı ve immünolojik mekanizmalar da sorumlu tutulmaktadır.<sup>[1,2]</sup>

Buerger hastalığının ilginç bir özelliği de dünyada görülen coğrafi dağılımıdır. Orta ve Uzak Doğu'da Avrupa ve Amerika Birleşik Devletleri'nden (ABD) daha yaygın görülmektedir. Periferik arter hastalıkları içinde ABD'de Buerger hastalığının görülme oranı

%1'in altındadır. Batı Avrupa ülkelerinde %0.5-5.6, ülkemizde %10 civarında görülen hastalık Uzak Doğu ülkelerine gittikçe %50 oranlarına ulaşmaktadır.<sup>[1]</sup> Sık görülen bu hastalığın medikal tedavisinde en çok prostosiklin analogları ve etkinlikleri tam olarak bilinmeyen antiagregan ilaçlar kullanılmaktadır.<sup>[1,2]</sup>

Venöz trombozda risk faktörleriyle ilgili yeterli düzeyde araştırma yapılmasına rağmen, arteryel sistemde trombozisle ilgili eldeki veriler yeterli değildir.<sup>[2,3]</sup> Hiperviskozite ve tromboza eğilim olduğunun bilinmesine ve histopatolojik incelemelerde trombüs oluşumu görülmesine rağmen, bu grup hastalarda trombosit fonksiyonları araştırılmamıştır.<sup>[1,2,4]</sup>

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: BYP 184.

Geliş tarihi: 2 Ocak 2008 Kabul tarihi: 19 Mart 2008

Yazışma adresi: Dr. Mine Yılmaz Demirbaş, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı, 34098 Cerrahpaşa, İstanbul. Tel: 0212 - 414 30 00 / 21288 e-posta: drminey@yahoo.com

Bu çalışmada, akut dönemde antitrombositler ve hemoreolojik ilaç kullanmayan Buerger hastalarında ve sağlıklı bireylerde adenosindifosfat (ADP) ve kollajen ile tetiklenen trombosit agregasyon düzeyleri araştırıldı.

## HASTALAR VE YÖNTEMLER

Bu çalışmada Buerger hastalarının seçiminde Shionoya ölçütleri kullanıldı.<sup>[5]</sup> (i) Sigara öyküsü; (ii) semptomların 50 yaşından önce ortaya çıkması; (iii) infrapopliteal arteriyel tıkaçıcı lezyonlar; (iv) üst ekstremitelerde tutulumu veya flebitis migrans; (v) sigara dışındaki aterosklerotik risk faktörlerinin yokluğu. Klinik tanı için bu beş ölçütün de bulunması gerekmektedir. Arteriografik bulgular destekleyici kanıt niteliğindedir ve karakteristiktir. Tirbüşon şeklinde kollateraller görülmektedir; ancak, bunlar patognomonik değildir ve diğer küçük damar hastalıklarında da görülebilir.

Uzun süreli gözlemler sonunda, Buerger hastalığı doğal seyri yönünden üç evreye ayrılmıştır.<sup>[6]</sup> İlk evrede (%50) başlangıçtaki geçici iskemik dönemi olaysız bir dönem izler. İkinci evre (%39), başlangıç döneminden sonra orta dereceli semptomların ortaya çıktığı dönemleri içerir. Üçüncü evrede (%8), tekrar eden akut atak dönemlerinde ciddi klinik semptomlar ortaya çıkar ve genellikle amputasyon gerekir.

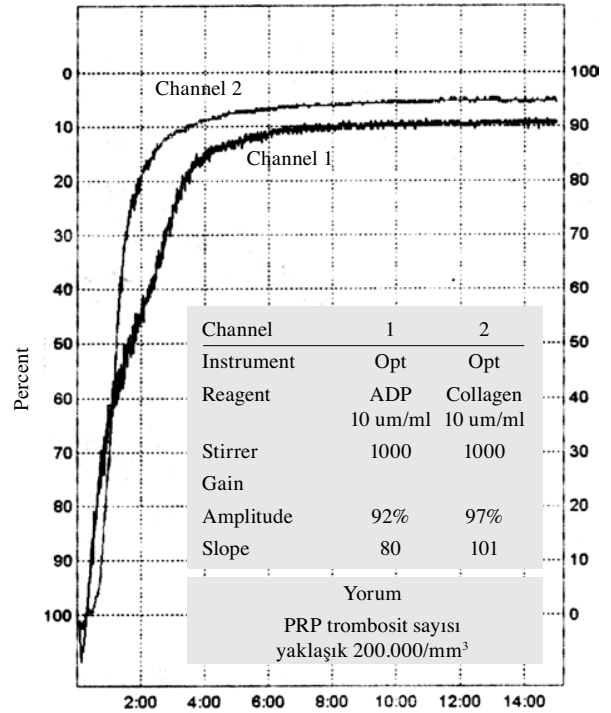
Çalışmamıza alınan hastalar akut ve Fontaine III-IV evresindeydi ve hastalığın seyri açısından da üçüncü gruba uymaktaydı. Trombosit fonksiyonlarını araştırmayı amaçladığımız için, hastalarımızın hiçbirinin özellikle antiagregan tedavi başta olmak üzere hemoreolojik ve vazodilatör ilaç kullanmaması gerekmektedir. Bu nedenle, çalışmaya, antiagregan ve hemoreolojik ilaç kullanmayan, akut dönemdeki Fontaine III-IV sınıflamasında yer alan 10 hasta (Buerger grubu) ve kontrol grubu olarak da, 50 yaşından küçük, sağlıklı 10 erkek alındı. Buerger grubundaki hastaların hepsi sigara kullanmaktaydı. Kontrol grubundaki sağlıklı bireyler ise, sigara içiminin tromboza eğilimi artırabileceği düşüncesiyle sigara içmeyen kişilerden seçildi. Her iki grupta yer alanların özgeçmişlerinde bir özellik yoktu.

Her grupta ADP ve kollajen ile tetiklenen trombosit agregasyon değerleri Chrono-log platelet agregometre cihazı, ADP ve kollajen için Chrono-log kiti kullanılarak optik yöntemle ölçüldü. Sekiz saatlik gece açlığını takiben 20 ml kan EDTA'lı tüplere konmak üzere alındı. Kan örnekleri iki saat içinde değerlendirildi. Bin devirde 10 dakika santrifüj edilen kandan trombosit zengin plazma (PRP), 3500 devirde 10 dakika santrifüj edilerek de trombosit fakir plazma (PPP) elde edildi. Optik yöntem, bu plazmaların agregometre cihazında yoğunluklarının optik yolla karşılaştırılması prensibine dayanmaktadır. Küvetin bir yanında bir ışık kaynağı,

diğer tarafında optik dedektörü bulunur. Dedektörün ölçebildiği ışık tümüyle, ışık kaynağı ile dedektör arasında bulunan küvet içerisinden geçen ışıktır. Yoğunluk karşılaştırmalarında referans yoğunluk olarak PPP olarak hazırlanan plazma kullanılmakta; PRP olarak hazırlanan plazmada, içerisinde henüz tam olarak santrifüjde dibe çöktürülmemiş trombositler bulunmaktadır. Bu trombositler çalışma sırasında verilen ilacın etkisine göre zincir kurmaya çalışacaklarından yoğunluk değişecektir. Sürekli olarak ilacın verileceği ortam PRP plazmadır. Cihaz ilk olarak referans plazma ile zengin plazmayı yoğunluk bakımından karşılaştıracak, kendi kalibrasyonunu yapacaktır. Zengin plazma içerisine ADP veya kollajen konduğunda çökmemiş trombositler hızla zincir kurmaya başlayacak ve plazma içerisinde gittikçe büyüyen agregantlar oluşacaktır. Optik geçirgenlik gittikçe azalacağından, oluşan yoğunluk artışı bir eğri şeklinde gösterilecektir (Şekil 1). Hasta ve kontrol grubunda Chrono-log platelet agregometre cihazında optik yöntem ile ADP ve kollajenin tetiklediği trombosit agregasyon düzeyleri ölçüldü. Sonuçlar Student t-testi ile değerlendirildi.

## BULGULAR

Buerger grubunda ADP ile tetiklenen agregasyonda ortalama değer %78.7±9.7, kontrol grubunda ise %81.5±3.5 bulundu (p=0.40). Kollajen ile tetiklenen trombosit agregasyonunda Buerger grubunda ortalama



Şekil 1. ADP ve kollajen ile tetiklenmiş trombosit agregasyon eğrisi.

değer  $90.5 \pm 10.0$ , kontrol grubunda  $88.5 \pm 2.3$  idi ( $p=0.54$ ). Bu bulgular, Buerger hastalarında kontrol grubuna oranla agregasyona eğilim olmadığını göstermekteydi.

## TARTIŞMA

Buerger hastalığı etyolojisinden sigara alışkanlığı, genetik faktörler, hiperkoagülabilite, damar endotel yapısı ve immünolojik mekanizmalar sorumlu tutulmaktadır.<sup>[1]</sup> Yapılan araştırmalarda görülen, hastalığın en önemli etyolojik faktörünün sigara alışkanlığı olduğudur. Hastalık seyrini tamamen durduran tek yol sigara alışkanlığını bırakmaktır.<sup>[2,7,8]</sup>

Buerger hastalığında cerrahi girişim şansı kısıtlı olduğundan alternatif tedavi yöntemleri araştırılmaktadır. Sigara alışkanlığı haricindeki diğer etyolojik faktörlere yönelik de çalışmalar halen sürmektedir. Trombosit agregasyonunun Buerger hastalarında ön planda yer aldığı düşünülmektedir; ancak, bu konuda yeterli inceleme yapılmamış, daha çok protrombotik faktörler ve hiperkoagülasyona eğilim araştırılmıştır.<sup>[1,8,9,10]</sup>

Otuz altı Buerger hastasıyla yapılan bir çalışmada protrombin 20210 G→A, faktör V 1691 G→A (faktör V Leiden), faktör V 4070 A→G (His 1299 Arg) mutasyonları değerlendirilmiştir. Protrombin 20210 G→A mutasyonu Buerger hastalarında yüksek oranda görülürken, diğerleri anlamlı bulunmamıştır.<sup>[9]</sup> Yirmi sekiz Buerger hastasında faktör V Leiden, protrombin 20210, faktör XIII Val34Leu genotipi, antitrombin, protein C, protein S ve antikardiyolipin IgM-G'nin değerlendirildiği başka bir çalışmada, kontrol grubuna oranla protrombotik risk faktörlerinde fark saptanmamış ve Buerger hastalığının protrombotik risk faktörü içermediği sonucuna varılmıştır.<sup>[10]</sup>

Sağlıklı kişilere kıyasla Buerger hastalarında ürokinaz plazminojen aktivatörü iki kat daha yüksek ve serbest plazmojen aktivatör inhibitörü I %40 daha düşüktür, serotonine artmış trombosit yanıtı vardır.<sup>[11]</sup> cANCA, pANCA, antinükleer antikolar, antiRo, antikardiyolipin antikolar negatiftir.<sup>[12]</sup> Endotelyum bağımlı vazodilatatörler, Buerger hastalarının hastalanmamış ekstremitelerinde bile bozuk bulunmuştur.<sup>[13]</sup>

Bu veriler, Buerger hastalığında trombositlerin önemini göstermektedir. Trombosit fonksiyonlarına yönelik yapılan çalışmaların çoğunda antiagregan ilaçların etkinlikleri periferik arter hastalıklarında (PAH) araştırılmıştır. TASC II çalışmasında, antiagregan tedavinin uzun dönemde kardiyovasküler morbidite ve mortaliteyi azalttığı gösterilmiş, PAH ile birlikte kardiyovasküler hastalığın diğer formlarının (koroner veya karotis) bulunması durumunda antiagregan tedavinin etkin olduğu bildirilmiş, sadece PAH varsa tedavi üzerinde düşünlmesi gerektiği önerilmiştir.<sup>[14]</sup>

Robless ve ark.<sup>[15]</sup> PAH, karotis arter hastalığı ve abdominal aort anevrizması bulunan olgularda spontan trombosit agregasyonu yanında ADP ve kollajen ile tetiklenen trombosit agregasyonunu araştırmışlar ve PAH'li olgularda spontan trombosit agregasyonunun ve kollajenin indüklediği agregasyonun yüksek olduğunu bulmuşlardır.<sup>[15]</sup> Bu bilgiler PAH'de antiagregan tedavinin etkili olabileceğini düşündürmekte iken, Buerger hastalarında antiagregan tedavinin etkili olup olmayacağı konusunda da bir fikir verebilir.

Kliniğimizde yapılan bir çalışmada, Buerger hastalarının hemoreolojik parametrelerinde bozulma saptanmış, plazma vizkozitesinde artma, eritrosit membran deformabilitesinde azalma görülmüştür.<sup>[4]</sup> Çalışmanın sonuçları hemoreolojiye yönelik ilaçların Buerger hastalığında faydalı olabileceğini göstermekte iken, burada da antitrombosit tedavinin etkinliği irdelenmemiştir.

Fiessinger ve Schafer'in<sup>[16]</sup> yaptığı bir çalışmada Buerger hastalarında aspirin (antiagregan) ve iloprostun (prostosiklin analogu) etkinlikleri karşılaştırılmıştır. Hastaların 28 gün sonraki kontrolünde iloprost grubunda tedaviye yanıt %85, aspirin grubunda %17; altı ay sonraki yanıt oranları ise sırasıyla %88 ve %21 bulunmuştur. Aynı çalışmada, iloprost uygulanan hastalarda amputasyon oranı %6 iken, aspirin uygulananlarda %18'dir. Bu araştırmaya göre, Buerger hastalarında prostosiklin analogları antiagregan tedaviden üstündür.

Antiagregan ilaçların Buerger hastalarında etkinliğinin gösterilmeden yaygın kullanılıyor olması trombosit fonksiyonlarını araştırmamıza neden olmuştur. Çalışmamızda, akut dönemde antiagregan ve hemoreolojik ilaç kullanmayan Buerger hastalarıyla kontrol grubu arasında trombosit agregasyonunda fark saptamadık. Klinikte yaygın kullanım alanı bulmasına rağmen, antiagregan ilaçların Buerger hastalığında kullanımının faydalı olamayabileceği görüşündeyiz.

## KAYNAKLAR

1. Olin JW. Thromboangiitis obliterans (Buerger's disease). In: Rutherford RB, editor. Vascular surgery. 6th ed. Vol. 1, Philadelphia: W. B. Saunders; 2005. p. 404-19.
2. Kröger K. Buerger's disease: What has the last decade taught us? Eur J Intern Med 2006;17:227-34.
3. Vig S, Chitolie A, Sleight S, Bevan D, Dormandy J, Thompson MM, et al. Prevalence and risk of thrombophilia defects in vascular patients. Eur J Vasc Endovasc Surg 2004;28:124-31.
4. Bozkurt AK, Köksal C, Ercan M. The altered hemorheologic parameters in thromboangiitis obliterans: a new insight. Clin Appl Thromb Hemost 2004;10:45-50.
5. Shionoya S. Diagnostic criteria of Buerger's disease. Int J Cardiol 1998;66 Suppl 1:S243-5.
6. Haimovici H, Mishima Y. Nonatherosclerotic diseases of small arteries. In: Ascher E, Hollier LH, Strandness DE Jr, Towne JB, Calligaro K, Kent KC, et al. editors. Haimovici's vascular

- surgery. 5th ed. Boston: Blackwell Publishing; 2004. p. 475-98.
7. Olin JW, Young JR, Graor RA, Ruschhaupt WF, Bartholomew JR. The changing clinical spectrum of thromboangiitis obliterans (Buerger's disease). *Circulation* 1990;82(5 Suppl):IV3-8.
  8. Puéchal X, Fiessinger JN. Thromboangiitis obliterans or Buerger's disease: challenges for the rheumatologist. *Rheumatology* 2007;46:192-9.
  9. Avcu F, Akar E, Demirkılıç U, Yılmaz E, Akar N, Yalçın A. The role of prothrombotic mutations in patients with Buerger's disease. *Thromb Res* 2000;100:143-7.
  10. Brodmann M, Renner W, Stark G, Winkler M, Pabst E, Hofmann C, et al. Prothrombotic risk factors in patients with thrombangitis obliterans. *Thromb Res* 2000;99:483-6.
  11. Choudhury NA, Pietraszek MH, Hachiya T, Baba S, Sakaguchi S, Takada Y, et al. Plasminogen activators and plasminogen activator inhibitor 1 before and after venous occlusion of the upper limb in thromboangiitis obliterans (Buerger's disease). *Thromb Res* 1992;66:321-9.
  12. Eichhorn J, Sima D, Lindschau C, Turowski A, Schmidt H, Schneider W, et al. Antiendothelial cell antibodies in thromboangiitis obliterans. *Am J Med Sci* 1998;315:17-23.
  13. Makita S, Nakamura M, Murakami H, Komoda K, Kawazoe K, Hiramori K. Impaired endothelium-dependent vasorelaxation in peripheral vasculature of patients with thromboangiitis obliterans (Buerger's disease). *Circulation* 1996;94(9 Suppl):II211-5.
  14. Norgren L, Hiatt WR, Dormandy JA, Nehler MR, Harris KA, Fowkes FG, et al. Inter-Society Consensus for the Management of Peripheral Arterial Disease (TASC II). *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2007;33 Suppl 1:S1-75.
  15. Robless PA, Okonko D, Lintott P, Mansfield AO, Mikhailidis DP, Stansby GP. Increased platelet aggregation and activation in peripheral arterial disease. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2003;25:16-22.
  16. Fiessinger JN, Schäfer M. Trial of iloprost versus aspirin treatment for critical limb ischaemia of thromboangiitis obliterans. The TAO Study. *Lancet* 1990;335:555-7.